Versuche zum Nachweis von Zellen des Yoshida-Sarkoms im strömenden Blut von Ratten

Gert Otte

1962

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

Versuche zum Nachweis von Zellen des Yoshida-Sarkoms im strömenden Blut von Ratten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gert Otte
aus Tilsit

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Telefon 221777

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. BICKENBACH
Mitberichterstatter: Dr. med. Hans-Jürgen SOOST
Dekan: Prof. Dr. med. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 8.5.1962

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MEINEN LIEBEN ELTERN

IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung 5

1) Bisherige Bemühungen auf der Suche nach Tumorzellen
   a) im strömenden Blut von Menschen
   b) im Tierexperiment
2) Unsere Zielsetzung

Material und Methode 6

1) Die verwandten Tiere
2) Der benutzte Tumor
3) Technik der
   a) Überpflanzung des Tumors
   b) Blutentnahme
   c) Verarbeitung des Blutes zu Filterpräparaten
   d) Durchsicht der Präparate
4) Differentialdiagnose der Tumorzellen
   a) Herstellung brauchbarer Vergleichspräparate
   b) Beschreibung der Tumorzellen

Versuchsanordnung 8

1) RE (in gleichen Abständen regelmässige Entnahmen)
2) K (Kontrollgruppe)
3) Mass (kurzdauernde einmalige Massage des Tumors)
4) Op (Tumor wird operativ entfernt)

Ergebnisse 9

1) Allgemeine Beobachtungen am Yoshida-Sarkom
2) RE
   a) Andere Arbeiten zu diesem Thema
   b) Kritische Darlegung unserer Befunde
   c) Vergleich mit Befunden anderer Autoren
3) K
   a) Vergleich der klinischen Verläufe der Gruppen RE und K
   b) Auswertung der Verläufe
4) Mass
   a) Kritische Darstellung der Zellbefunde und der Verläufe
   b) Vergleich der Befunde mit denen der Gruppen RE und K
5) Op
   a) Kritische Darstellung der Verläufe
      aa) ohne Cytostaticumbehandlung
      bb) unter Schutz von Trenimon

cc) Dosierung von Trenimon
b) Darstellung der Zellbefunde
c) Kritischer Vergleich der Zellbefunde mit Metastasenbildung
d) Gedanken zur Theorie der Metastasenentstehung

Abschliessender Überblick über die Ergebnisse 20

1) Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse
2) Kritische Schlussbemerkung

Literatur 22

Seit Ashworth (1) im Jahre 1869 in der Vena saphena eines Gestorbenen mit multiplen Hauttumoren Zellen gefunden hatte, die denen des Tumors glichen, sind in der Literatur zahlreiche Veröffentlichungen erschienen, die über Funde von Krebszellen in strömendem Blut von Krebskranken berichteten, sowie über Methoden zur Darstellung dieser Zellen (14, 16, 20).

Aus den verschiedensten Gründen interessieren aber auch Ergebnisse von entsprechenden Versuchen an Tieren. Auch hier sind einige Arbeiten bekannt geworden, in denen direkt oder indirekt der Nachweis von Tumorzellen geführt werden konnte. So hat z.B. Blumenthal (3) als biologischen Nachweis Blut von Tumortieren auf gesunde Tiere übertragen und so Tumoren erzeugen können, die dem Ausgangstumor vollkommen gleichsahen. In ähnlicher Weise hat Gross (9) in Zeitabständen von je einem Tage Blut von Tumortieren verimpft und dabei gesehen, dass besonders gute Angänge zu erzielen waren, wenn der Tumor am Spendertier 8, 9 und 23 Tage alt gewesen war. Wagner (22) wies hämatogen verschleppte Tumorzellen nach, indem er metastasenfreie Organe tumortragender Tiere mit Erfolg verimpfte.
Nachdem nun von verschiedenen Autoren das Vorkommen virulenter Tumorzellen im strömenden Blut von Tieren nachgewiesen worden war, entstand der Wunsch, sich diese auch sichtbar zu machen. Zu diesem Zweck fertigte Wagner von dem geronnenen Herzblut tumortragender Tiere histologische Schnittpräparate an, in denen er Zellen des originalen Tumors fand. - Mit anderen Methoden arbeiteten Domagk (6), Jonescu (12), und Zeidmann et al. (23). Sie stellten zahlreiche Blutausstriche von Tieren mit Impftumoren her und fanden auf ihnen auch Zellen, die sie als Tumorzellen oder tumorverdächtig ansahen. Wieder eine andere Methode benutzte O. Jonasson (11), die mit einem Anreicherungsverfahren nach Roberts jeweils grössere Mengen von Blut eines Tieres untersucht hat.

Auf der Suche nach Tumorzellen im menschlichen Blut ist inzwischen eine ganze Anzahl von Verfahren entwickelt worden, in denen nach Eliminierung der roten Blutkörperchen eine relative Anreicherung aller restlicher Zellen ermöglicht wird und die die quantitative Auswertung grösserer Blutmengen zulassen. Obwohl inzwischen zahlreiche Ergebnisse von derartigen quantitativen Untersuchungen mit menschlichen Krebszellen vorliegen, sind entsprechende Versuche mit Laboratoriumsgeschwülsten bisher nicht bekannt geworden. Es soll deshalb im folgenden über Erfahrungen berichtet werden, die wir mit einer solchen Methode an Zellen eines experimentellen Tumors gemacht haben.

Zunächst war zu klären, dass sich die erwähnten Methoden auch für den Tierversuch eignen. Es interessierte uns, ob - wie wiederholt beschrieben - irgendeine Regelmässigkeit in der spontanen Ausschwemmung von Tumorzellen zu erkennen ist, solange der Tumor an dem Tiere besteht. Ferner wollten wir

klären, ob eine mechanische Irritation der Geschwulst durch Massage oder Operation eine verstärkte Tumorzellaussaat zur Folge hat. Eine Gruppe der operierten Tiere behandelten wir zur Prüfung der chemotherapeutischen Leistungsfähigkeit dieses Mittels mit dem Cytostaticum "Trenimon" Bayer.

MATERIAL UND METHODE

Die Versuche wurden an weiblichen Albinoratten des Inzuchtstammes Wistar durchgeführt. Sie hatten ein Gewicht von 160 bis 200 g. Sie wurden, wie bei uns üblich, mit Küchenabfällen gefüttert, die ihnen reichlich angeboten wurden. Als Tumor wählten wir das Yoshida-Sarkom, das für seine hohe Angangsrate, sein schnelles Wachstum und seine grosse Neigung zur Metastasierung bekannt ist.

Die Überpflanzung des Tumors geschah unter aseptischen Kautelen. Nach steriler Entnahme des Tumors aus dem frisch getöteten Tier wurden die nicht nekrotischen Anteile zerkleinert, in einem Mörser zerstossen und zu gleichen Gewichtsteilen mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Dann wurde jedem Tier 0,5 ml dieser Aufschwemmung subcutan am Rücken injiziert.
Zur Blutentnahme wurde nach Hyperämisierung in heissem Wasser die Schwanzspitze kupiert, das herausquellende Blut auf einer kleinen Uhrglasschale aufgefangen und davon 0,25 ml zu 0,05 ml Na-Citrat aufgezogen.
Daran schliesst sich die Verarbeitung des Blutes an, die aus drei Phasen besteht:

1. Zur Anreicherung mit Leukocyten und Tumorzellen wird das Blut zunächst mit NaCl-Lösung und mit 15 Tropfen einer 0,1 %igen Saponinlösung versetzt. Die Hämolyse ist nach 10 Minuten eingetreten, und die Zellen können nun durch 5 minütiges Zentrifugieren mit 300 U/sec. von ihrem Überstand aus Plasma, NaCl-Lösung, Saponin, Citrat und Erythrocytentrümmern befreit werden, müssen aber anschliessend zum Schutz gegen Autolyse mit physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt werden.
2. Als zweite Phase schliesst sich die Fixierung auf ein Filter an. Die Zellsuspension wird in ein Saugfiltergerät gegeben, die Flüssigkeit mit einem Unterdruck von etwa 25 mm Hg abgesaugt und die Zellen auf einem Spezialfilter (Cella-Filter) aufgefangen. Fixierung mit Aether-Alkohol, der ebenfalls vorsichtig abgesaugt wird.
3. Die dritte Phase ist die Fertigstellung des Präparates. Der Filter wird mit den aufliegenden Zellen nach Papanicolaou gefärbt, in einem Xylolbad durchsichtig gemacht und schnell mit Kanadabalsam auf einem 5,5 x 7,1 cm grossen Objektträger eingedeckt.

Es gibt eine grosse Anzahl von verschiedenen Techniken zur Herstellung von Blutpräparaten, mit denen eine derartige Anreicherung von Leukocyten und Tumorzellen erreicht werden kann (14). Wir haben diese Methode ausgewählt,

weil sie eine verhältnismässig einfache Handhabung mit einer ausreichend schonenden Behandlung der Zellen in sich vereinigt. Die auf beschriebene Weise erzeugten Präparate werden nach dem Mäanderprinzip sorgfältig durchgesehen bei einer Vergrösserung von 12,5 x 10, die bei Bedarf bis auf 12,5 x 100 erhöht werden kann. Die Musterung eines Filters beansprucht bei guter Übung zwischen 2 und 4 Stunden. Dabei gilt es nun, mit grösstmöglicher Wahrscheinlichkeit die Tumorzellen von den anderen nicht hämolysierten Zellen zu differenzieren.

Es musste dafür zunächst eine Vorstellung von dem Aussehen einer isolierten Zelle des Yoshida-Sarkoms erarbeitet werden. Wir haben deshalb ebenfalls nach Papanicolaou gefärbte Tumorabstriche angefertigt, auf denen sich die einzeln liegenden, aus dem Gewebsverbande herausgelösten Tumorzellen darstellten. Diese Zellen wiesen sehr ausgeprägte gemeinsame Merkmale auf. Ausser ihrer Grösse, die diejenige aller weissen Blutzellen bei weitem übertrifft, zeigen sie eine deutliche, auch bei geringer Vergrösserung sichtbare Unterteilung in Plasma und einen grossen Zellkern mit einem gut erkennbaren Nucleolus. Dieser Nucleolus ist auffällig gross, optisch dicht und scharf begrenzt. Eine Verwechslung dieser Zellen mit solchen des weissen Blutbildes ist schwerlich möglich. Die Zellen dieses Typs, die wir in zahlreichen Präparaten angetroffen haben, können mit Sicherheit als Tumorzellen angesprochen werden.
Wir fanden in den untersuchten Filterpräparaten aber auch Zellen, bei denen wir uns trotz vorhandener Tumorzellmerkmale nicht entschliessen konnten, sie als eindeutige Sarkomzellen einzustufen. Andererseits konnten sie aber auch nicht jugendlichen Formen des weissen Blutbildes zugeordnet werden. Immerhin musste man bei der grossen Anreicherung der Leukocyten (auf den Filtern fanden sich im Durchschnitt 4 Millionen Zellen) mit dem Auftreten von weniger bekannten und abnormen jugendlichen Formen gerechnet werden. Knochenmarksausstriche zeigten aber, dass es sich bei den fraglichen Zellen nicht um vereinzelt ausgetretene Knochenmarkszellen oder jugendliche Leukocyten handeln konnte. - Da also diese auffälligen Gebilde weder sicher als Knochenmarks- oder als Blutzellen, noch eindeutig als maligne angesehen werden konnten, bezeichneten wir sie als "tumorverdächtig".

VERSUCHSANORDNUNG

RE

Die im folgenden dargestellten Versuche sind an insgesamt 60 Ratten durchgeführt worden, die in 4 Gruppen aufgeteilt waren. Die 10 Tiere der Gruppe RE (regelmässige Entnahmen) sollten Aufschluss darüber geben, ob es irgendwelche Regelmässigkeiten in der spontanen Tumorzellausschwemmung gibt.
Im Idealfalle hätte man jedem Tier an jedem Tage eine Blutprobe entnommen. Aus vorbereitenden Versuchen ist jedoch bekannt, dass die Schwanzkupierung nur am zarten distalen Teil des Schwanzes die erforderliche Blutmenge produzierte, so dass nicht mehr als höchstens 6 Entnahmen pro Tier möglich sind. Deshalb haben wir uns entschlossen, nur alle 5 Tage Blut zu entnehmen. Um aber eine lückenlose Folge zu erreichen, wurden jeden 5. Tag zwei Tiere zur Blutentnahme herangezogen, und zwar beginnend jeweils am 1., 2., 3., 4. und 5. Tag nach der Tumorüberpflanzung.

K

Parallel zur Gruppe RE läuft die Kontrollgruppe K mit ebenfalls 10 Tieren, die genau das gleiche Gewicht wie die von RE haben und mit Tumormaterial von den gleichen Spendern beimpft worden sind. Von dieser Gruppe werden keine Blutproben abgenommen.

Mass

Eine dritte Gruppe gilt der Beobachtung der Zellaussaat bei Tumormassage. Diese Gruppe "Mass" enthält ebenfalls 10 Tiere. Der Tumor wird, wenn er etwa Walnussgrösse erreicht hat, kräftig mit knetenden Bewegungen massiert. Kurz vor der Massage, währenddessen, 10 und 30 Minuten danach wird ebenfalls je eine Blutprobe entnommen.

Op

Die grösste Gruppe ist mit 30 Tieren die Gruppe Op (Operation). Bei diesen Ratten wird der Tumor, wenn er walnussgross ist, operativ entfernt. Diese Operation ist sehr einfach: In Aether-Narkose wird nach Enthaarung und Desinfektion des Operationsfeldes der Tumor mit einem Haltefaden angeschlungen und dann möglichst radikal unter Mitnahme der ihm aufliegenden Haut und von Teilen der einbezogenen oberflächlichen Rückenmuskulatur excidiert. Muskelnähte und fortlaufende Naht der Haut sowie eine subcutane Infusion von 2 ml Glucoselösung beschliessen die etwa 15 Minuten dauernde Operation. Es war geplant, auch in dieser Gruppe in festgesetzten Zeitabständen Blut zu entnehmen. Die Kontrollentnahmen vor dem Eingriff waren regelmässig möglich. Unter der Operation liess sich aus technischen Gründen keine Blutentnahme durchführen. Nach der Operation war es in den meisten Fällen durch die Reaktion auf das Trauma und durch den Blutverlust unmöglich, beliebig Blut abzunehmen. Man musste sich

deshalb mit sehr unterschiedlichen Zeitabständen begnügen, je nach dem, wann das Tier in der Lage war, Blut herzugeben.

Zehn Tiere dieser Gruppe wurden mit dem Cytostaticum "Trenimon" Bayer behandelt. Da der vom Werk vorgeschlagene Dosierungsmodus für unsere sehr schnell wachsende Geschwulst nicht ausreichend erschien, mussten wir in eigenen Vorversuchen ein neues Behandlungsschema erarbeiten. Wir entschieden uns, an 8 Tagen hintereinander je 0,05 mg/kg subcutan zu geben, die am Rücken auf der dem Tumor abgewandten Seite gespritzt wurden. Die Behandlung begann einen Tag vor der Operation, so dass die Tiere vor dem Eingriff bereits zwei Injektionen erhalten hatten. Kurz nach der Applikation machten die Tiere stets einen leicht reduzierten Eindruck, und auch im Verlauf der Behandlung büssten sie an Temperament ein. Diese Folgen, die sich ebenfalls an nicht operierten Tieren beobachten liessen, schwanden aber regelmässig nach Ende der achttägigen Behandlung.

ERGEBNISSE

Es seien zunächst einige allgemeine Erfahrungen über das Yoshida-Sarkom mitgeteilt, die wir an 80 Ratten sammeln konnten.
Bei einer Ausgangszeit von durchschnittlich 3-4 Tagen (als angegangen galt ein Tumor an dem Tage, an dem er erstmalig linsengross tastbar war) fanden wir an den unbehandelten und unbeeinflussten Tieren eine Überlebenszeit von 25±10 Tagen. Eine primäre Immunität beobachteten wir an zwei Tieren, an denen auch nach wiederholter Impfung von mehr als der doppelten Impfmenge kein Tumorangang erreicht wurde. Das entspricht einem Satz von 2,5 %. Es muss sich dabei um eine primäre Tumorimmunität gehandelt haben; denn der Tumor war zu dieser Zeit schon lange an unseren Inzuchtstamm adaptiert, und da die Tiere gesund waren und in jeder - auch in genetischer - Hinsicht die gleichen Voraussetzungen wie die anderen mitbrachten, kommt kein anderer hemmender Einfluss in Frage.

Eine zahlenmässig exakte Zusammenstellung aller hämatogenen Metastasen kann hier leider nicht gegeben werden. Da unser Tumor häufig von hinten in den Lendenbereich der Bauchwand hineingewuchert war, war eine Unterscheidung der bekanntlich gern in die abdominalen Lymphknoten und in das Mesenterium streuenden Metastasen (18,19) von per continuitatem gewachsenen Wucherungen häufig nicht möglich. Immerhin kann aber ausgesagt werden, dass wir im Gegensatz zu den von Schmähl erhobenen Befunden an Tieren, denen allerdings i.v. Tumorzellen injiziert worden waren, bei unserem Material in keinem Falle an den Nebennieren, Knochen, Knochenknorpelgrenzen, Nieren oder Lungen Metastasen gefunden haben. Wir können aber bestätigen, dass das Yoshida-Sa. offenbar bevorzugt Lymphknoten, Thymus, Mesenterium und Darm befällt, dagegen aber Leber, Milz, Uterus, Muskulatur und Gehirn zu verschonen scheint.

RE

Über die Verhältnisse bei spontaner Tumorzellaussaat sollte die Gruppe RE Auskunft geben. Den Anstoss dazu gaben zwei Arbeiten, nach denen an bestimmten Tagen nach der Tumorüberpflanzung eine eindeutig nachweisbare Ausschwemmung von malignen, virulenten Zellen stattfindet.

So beobachtete Gross (9) am Ehrlichschen Mäuse-Ascites-Sarkom bei der Verimpfung grosser Mengen von Blut krebskranker Tiere, dass eine subcutane Transplantation auf gesunde Tiere nur dann zu einer Geschwulstbildung führte, wenn der Tumor des Spendertieres 1, 7, 8, 9, 11, 13, 23 und 33 Tage alt war. Besonders schnelles Wachstum konnte mit Blut von Tieren mit 8, 9, 23 Tage alten Tumoren erzeugt werden.

Aus der Tatsache, dass Blut von krebskranken Tieren an bestimmten Tagen mit Erfolg übertragbar ist, liesse sich schliessen, dass sich an diesen Tagen besonders viele transplantabele Zellen im Blutkreislauf befinden.

Andere Versuche mit dem amerikanischen Tumor T 10 deuten in dieselbe Richtung. Olga Jonasson (11) hat mit grösseren Mengen Blut von Mäusen beobachtet, dass vom 10. Tage nach Tumorübertragung an im Blut der befallenen Tiere in 19 von 34 Blutproben maligne Zellen gefunden werden konnten. Regelmässig traten nach dem 18. Tage nach der Übertragung Tumorzellen auf.

Bei Versuchen mit einem anderen Tumor (T 241) hat dieselbe Autorin vom 1.-10. Tage in 49 Blutproben keinen einzigen positiven Zellbefund; erst am 11. Tage wurden wieder Zellen gefunden.

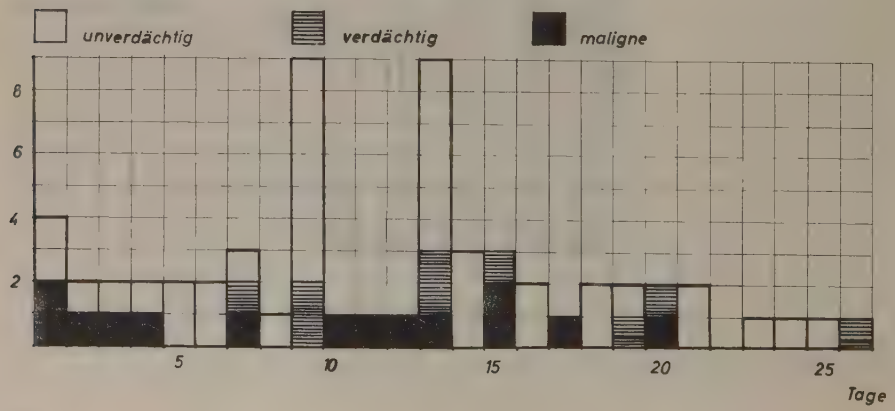
Ähnlich eindeutige Befunde erhofften wir uns auch für unsere Versuche. Wir mussten aber feststellen, dass die Tumorzellen in den einzelnen Präparaten sehr dünn gesät sind. Meistens findet sich nur eine maligne oder verdächtige Zelle im Präparat, selten mehrere. So haben wir uns in dieser Gruppe darauf beschränkt, die einzelnen Präparate ohne Rücksicht darauf, wie viele von den in Frage stehenden Zellen auf dem Filter gefunden wurden, jeweils als "maligne", "verdächtig", oder "unverdächtig" zu bezeichnen. Die zeitliche Gliederung der Entnahmen in Gruppe RE, sowie die Ergebnisse ihrer mikroskopischen Auswertung geht aus Tab. 1 hervor.

TABELLE 1

	1	2	3	4	5	6	7	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
RE 9	1					/					/					/			+										
RE 10	1					/					/					/					10?					+			
RE 7		/					1					1+																	
RE 8		1					7			+																			
RE 3			1						/				/				+												
RE 5			/						?				/										+						
RE 4				/						/				/										/					/+
RE 6				1						/				?					/					+					
RE 1	/				/	/				1					?		+												
RE 2	/				/					1					1					/					+				

In dieser Tabelle, in der die Zahlen 1-34 die Tage nach der Tumorüberimpfung bedeuten, sind die verdächtigen Zellen mit einem Fragezeichen symbolisiert, und die arabischen Ziffern bezeichnen die Anzahl der in dem Präparat aufgefundenen Tumorzellen. Die Schrägstriche stehen für ein unverdächtiges Präparat. Die Kreuze markieren den Tod des Tieres. Es zeigt sich, dass mit zwei Ausnahmen bei allen Tieren wenigstens einmal eine Tumorzelle gefunden worden ist. Bei RE 4, dem Tier mit der längsten Überlebenszeit, fand sich nicht einmal eine einzige verdächtige Zelle. RE 8 dagegen, das Tier mit der kürzesten Überlebenszeit, zeigte schon von vornherein zwei positive Zellbefunde. Diese beiden extremen Fälle legen es nahe, dem Zellbefund prognostische Bedeutung zuzuschreiben, und zwar in dem Sinne, dass der Nachweis von Tumorzellen im Blut als Zeichen einer starken Metastasierung prognostisch ungünstig zu bewerten wäre. Die anderen Beispiele in dieser Gruppe machen aber deutlich, dass eine derartige Aussage nicht gemacht werden kann: es wird keine Beziehung zwischen Lebensdauer und Zellbefund erkennbar. Auch gibt die Metastasenbildung keine Bestätigung für diese Annahme. So haben wir z.B. bei RE 8, bei dem man wegen der offenbar sehr starken Zellausschwemmung mit zahlreichen Metastasen rechnen müsste, lediglich eine mittelgrosse Metastase im Mesenterium gefunden, während RE 4, in dem wir keine Tumorzelle gefunden hatten, je eine grosse Tochtergeschwulst im Mesenterium und im Mediastinum aufwies. Auch an den anderen Tieren dieser Gruppe fiel uns eine Relation zwischen Zahl der aufgefundenen Tumorzellen und dem Umfang der Metastasierung nicht auf.
In der Zeit vom 8.-12. Tage wurden - wie aus der Tabelle ersichtlich - die fälligen Entnahmen eingespart. Stattdessen wurden in diese Lücke die Kontrollproben der Gruppen Mass und Op eingeschoben, die bis zu dieser Zeit unbehandelt geblieben waren und damit ebenfalls für RE verwertbar sind. Insgesamt liegen aus dieser Gruppe 76 Präparate vor, von denen 14 als maligne und 9 als verdächtig eingestuft wurden.

Eine Zusammenschau der Befunde aller Blutproben von RE zeigt Abbildung 1.



Dabei entspricht ein Quadrat jeweils einem Präparat, und eine Säule stellt die Anzahl der an einem Tage hergestellten Präparate und zugleich den Anteil der malignen und verdächtigen Präparate dar.
Aus dieser Darstellung geht hervor, dass nach den vorliegenden Ergebnissen eine Regelmässigkeit in der Ausschwemmung nicht zu erkennen ist. Immerhin wird deutlich, dass sich beim Yoshida-Sarkom offenbar nicht längere Perioden grosser Zellausschwemmungen mit solchen ohne jeglichen Zellbefund abwechseln. Vielmehr scheint sich die Loslösung der Tumorzellen zeitlich ganz willkürlich je nach den individuellen Gegebenheiten an der Geschwulst zu vollziehen. Auch die Beobachtung von Jonasson (11), dass mit wachsender Tumorgrösse auch die Zellausschwemmung zunimmt, können wir nicht bestätigen. In demselben Sinne hat auch Zeidmann (23) berichtet, dass er bei Experimenten an einem Mäusesarkom keine Relation zwischen Tumorgrösse und Zellaussaat finden konnte. Es hat bei uns sogar den Anschein, als gäbe es in der Anzahl der Tumorzellen bei steigender Tumorgrösse eher eine rückläufige Entwicklung, da nach dem 20. Tage keine sichere Tumorzelle gefunden worden ist.

K

Die Tiere der Kontrollgruppe K, denen kein Blut entnommen worden ist, zeigten im klinischen Verlauf keinen Unterschied zu denen von RE. Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug in beiden Gruppen gleichermassen zwischen 25 und 26 Tage. In der Metastasierung zeigten sich in Gruppe RE keinerlei Hinweise auf irgendeinen Einfluss des Blutverlustes. Das ist auffällig, wenn man sich die Veröffentlichung von Tadenuma und Okonozi (21) vergegenwärtigt, die beobachteten, dass in Versuchen mit zwei verschiedenen Mäusecarcinomen eine im Abstand von je einer Woche durchgeführte Entnahme von 4-5 Tropfen Blut aus der Nackenvene eine Metastasenhäufigkeit von 52 % bzw. 53 % mit sich bringt im Vergleich zu 9 % bzw. 21,3 % in den Kontrollgruppen. Eine derartige Malignitätssteigerung hat sich bei einem viel grösseren Blutverlust an unserem Rattentumor nicht einmal andeutungsweise beobachten lassen.

Mass

Die dritte Gruppe, Mass, unterscheidet sich von der Gruppe K dadurch, dass an den Tieren zwischen dem 9. und 13. Tage des Tumorbestehens (Walnussgrösse des Tumors) eine Tumormassage durchgeführt und zur Untersuchung der evtl. durch die Massage produzierten Tumorzellaussaat Blutproben abgenommen wurden. Das Ergebnis der mikroskopischen Auswertung gibt Tabelle 2 wieder. Auch hier ist wie in der ersten Tabelle die Anzahl der Tumorzellen in arabischen Ziffern und der verdächtigen Zellen durch Fragezeichen wiedergegeben. Das Bild ist sehr bunt. Dagegen sind jedoch die Summen aus den einzelnen senkrechten Spalten schon aufschlussreicher. Man kann die sich ergebenden Zahlenwerte in ein Kurvenbild bringen (Abb. 2 a), in dem auf der Ordinate die Zahl der gefundenen Zellen und auf der Abszisse die Zeitabstände der einzelnen Blutentnahmen

TABELLE 2

	vor	währ.	10 Min	30 Min
Mass 1	?	/	/	?
Mass 2	1	1	3	/
Mass 3	?	/	3	2
Mass 4	/	?	/	1
Mass 5	/	/	2	/
Mass 6	/	1	/	/
Mass 7	?	/	?	?, 2
Mass 8	?, 2	?	3	/
Mass 9	/	/	/	/
Mass 10	/	/	2	/
	4?,3	2?,2	?,13	2?,5

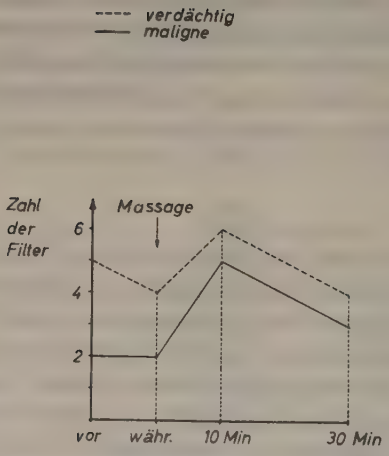


ABBILDUNG 2 a

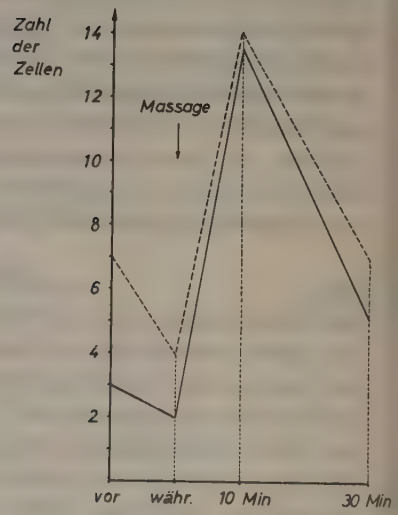


ABBILDUNG 2 b

eingetragen sind. Die durchgezogene Linie verbindet die gezählten Tumorzellwerte, die unterbrochene Linie die Zahlenwerte der verdächtigen Zellen. Man sieht, dass schon vor der Massage Tumorzellen vorhanden waren, die bei der Massage etwas an Zahl abnehmen, dann aber nach 10 Minuten deutlich ansteigen. Nach 30 Minuten sind sie wieder abgefallen, ohne jedoch den Ausgangswert erreicht zu haben. Wertet man nicht die einzelnen Zellen, sondern wie bereits vorher die ganzen Filterpräparate als maligne, verdächtig oder unverdächtig, so ergibt sich die Kurve der Abb. 2 b, die sich im Prinzip nicht von Abb. 2 a unterscheidet. Hier bleibt die Zahl der malignen Filter vor und während der Massage gleich; wieder ein Anstieg nach 10 Minuten und ein Abfall nach 30 Minuten, der aber oberhalb des Ausgangswertes bleibt. Die verdächtigen Zellen bzw. Filter vermögen das Bild nicht wesentlich zu verschieben. Sie sind bei der Betrachtung der Kurven nicht berücksichtigt worden; denn man kann in Unkenntnis ihrer Identität keinerlei Aussagen über ihren Wert für die Interpretation der Ergebnisse machen. Selbst wenn einige von ihnen oder alle den malignen Zellen zuzurechnen wären, widerspräche dies nicht der Tendenz, die sich als eine vorübergehende vermehrte Zellaussaat etwa 10 Minuten nach der Tumormassage andeutet. Vergleichen wir die Überlebenszeit der Gruppe Mass von durchschnittlich 24 Tagen mit derjenigen von 25 - 26 Tagen der Gruppen RE und K, so ergibt sich eine geringe Lebensverkürzung bei den Tieren, bei denen eine Tumormassage durchgeführt worden ist. Der Vergleich der Metastasierung in diesen drei Gruppen zeigt, dass trotz vermehrter Tumorzellaussaat nach der Massage wider Erwarten sogar weniger Metastasen zu finden sind als an den anderen Tieren. Auch hier ist also die nach Tadenuma und Okonozi (21) zu erwartende Malignitätssteigerung auch nicht andeutungsweise zu beobachten.

Op

In der Gruppe Op sind 20 Tiere ohne zusätzliche Behandlung operiert worden. Für die meisten von ihnen hat sich die Operation als deutlich lebensverlängernd erwiesen. Die durchschnittliche Überlebenszeit nach der Tumorüberimpfung betrug hier 28 Tage, bei den Gruppen RE und K dagegen 25 - 26 Tage. Meistens ist nach der Operation ein Recidiv entstanden, das zusammen mit den Metastasen den Tod bewirkt hat. Nur 4 Tiere sind durch die Operation geheilt worden (20 %). Als geheilt gilt dabei ein Tier, wenn sich die Operationswunde geschlossen hat, das Tier das alte Gewicht erreicht und mindestens 100 Tage nach der Operation gesund überlebt hat.

Von den Tieren dagegen, die unter cytostatischem Schutz operiert worden waren, sind 6 (60 %) durch den Eingriff geheilt worden. Von den übrigen 4 Tieren ist nur eines nach 32 Tagen an einem Tumorrecidiv ohne Metastasen gestorben. Von den drei anderen ist eines nach 25 Tagen mit einer schweren Pneumonie und ein anderes unter dem Zeichen eines Ikterus gestorben. Das dritte Tier starb am 32. Tage und wurde halb aufgefressen vorgefunden; ein Befund war deshalb nicht zu erheben. Ein Rezidiv hatte sich aber nicht gezeigt.

TABELLE 3

Op 1	vor: --	15 Min: --	55 Min: 1	
Op 3	vor: 3?	25 Min: --		
Op 4	vor: --	15 Min: --	45 Min: ?	
Op 6	vor: --	15 Min: 5?,55	85 Min: --	95 Min: --
Op 7	vor: --	25 Min: 2?,1		
Op 9	vor: --	15 Min: --		
Op 10	vor: --	65 Min: --		
Op 12	vor: --	15 Min: --	22 Min: --	
Op 13	vor: --	15 Min: --	1 Tag: --	
Op 14	vor: --	15 Min: --		
Op 15	vor: --	15 Min: --	1 Tag: --	
Op 16	vor: --	15 Min: --	125 Min: --	
Op 17	vor: --	15 Min: --		
Op 18	vor: --	15 Min: --		
Op 19	vor: --	60 Min: --		
Op 21	vor: --	25 Min: --		
Op 22	vor: --	50 Min: --		
Op 24	vor: --	21 Min: 1		
Op 25	vor: 1	20 Min: 1		
Op 39	vor: --	45 Min: unbr.		

Die unter chemotherapeutischem Schutz behandelten Tiere:

Op 34	vor: x)			
Op 35	vor: unbr.	24 Min: --	34 Min: --	
Op 38	vor: x)			
Op 40	vor: --	23 Min: unbr.		
Op 41	vor: unbr.	18 Min: unbr.		
Op 42	vor: ?	20 Min: --	35 Min: 1	
Op 43	vor: unbr.	20 Min: unbr.		
Op 44	vor: x)			
Op 46	vor: x)			
Op 48	vor: --	15 Min: --	70 Min: --	

x) nicht durchgesehen, da weitere Entnahmen nicht möglich waren
unbr. = unbrauchbar

Es sind also von den Tieren, die mit Trenimon behandelt wurden, 3 (30 %) interkurrent gestorben, möglicherweise an toxischen oder anderen Nebenwirkungen des Cytostaticums. Einer Überdosierung kann dieses Ergebnis nicht zugeschrieben werden. Zwar bewegten wir uns mit der Gesamtdosis von 0,4 mg/kg dicht unterhalb der vom Werk angegebenen toxischen Grenze; bei dem ausserordentlich energischen Wachstum des Yoshida-Sarkoms musste aber eine hohe Dosierung gewählt werden, wenn man eine befriedigende Wirkung erzielen wollte. Im übrigen hatten Vorversuche ergeben, dass die Tiere dieselbe Einzeldosis auch über einen grösseren Zeitraum hinweg mit fast der doppelten Gesamtdosis gut vertragen hatten.

Wie bereits berichtet, machten in dieser Gruppe, wohl durch die traumatisierende Wirkung der Operation zusammen mit der Narkose, die Blutentnahmen grosse Schwierigkeiten, offensichtlich verstärkt durch die toxische Wirkung des Cytostaticums, das in einigen Fällen jegliche Blutentnahme nach der Operation unmöglich machte. So konnte also nicht in den geplanten regelmässigen Abständen Blut entnommen werden. Wir mussten uns deshalb darauf beschränken, zu warten, bis der Rattenschwanz wieder hyperämisierbar war, und sind auf diese Weise nur zu sehr lückenhaften und auf die verschiedensten Zeitpunkte verstreuten Blutentnahmen gekommen, aus denen schwer ein eindeutiges Bild zu entnehmen ist. Eine Übersicht darüber gibt die Zusammenstellung Tab. 3, in der bereits die Zellbefunde eingetragen sind. Es sind in dieser Gruppe im ganzen 58 Filter durchgesehen worden. Einige Präparate konnten nicht verwertet werden, weil sie wegen technischer Mängel unbrauchbar waren. Diese Mängel (Zerstörung der Zellen oder Verunreinigung des Präparates) sind zum grössten Teil auf die grossen Schwierigkeiten bei der Blutentnahme zurückzuführen.

Man kann sich auch hier am besten einen Überblick verschaffen, wenn man die Präparate in ein Schaubild ordnet, und zwar zusammengefasst in Gruppen von Viertelstunden, innerhalb derer sie entnommen worden sind (Abb. 3 a). Hier zeigt die Höhe der Säulen die Zahl aller der betreffenden Viertelstunden entnommenen Blutproben an, unterteilt in maligne, verdächtige und unverdächtige. Abb. 3 b macht den prozentualen Anteil der malignen und verdächtigen Präparate deutlich. Dabei geben die Zahlen über den Säulen an, wieviele Präparate insgesamt zu dieser Säule gehören. Es zeigt sich, besonders in der prozentualen Aufschlüsselung in Abb. 3 b, ein Anstieg der malignen Präparate nach der Operation und ihr Rückgang bzw. Verschwinden nach einer Stunde.

Ist nun dieser vermehrten Zellaussaat eine klinische Bedeutung beizumessen, etwa im Sinne einer verstärkten Metastasenbildung nach der Operation? - Zahlreiche Autoren werten ja die Anzahl der Metastasen als Ausdruck für den Umfang der erfolgten Zellaussaat. Tatsächlich haben auch z.B. Zeidmann und Mitarbeiter an einem transplantablen Mäusesarkom eine feste Relation zwischen der Anzahl der intravenös verimpften Tumorzellen und der Zahl der resultierenden Lungenmetastasen gefunden (23).

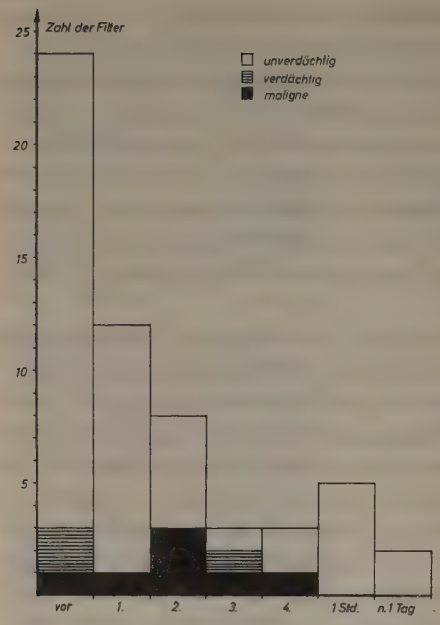


ABBILDUNG 3 a

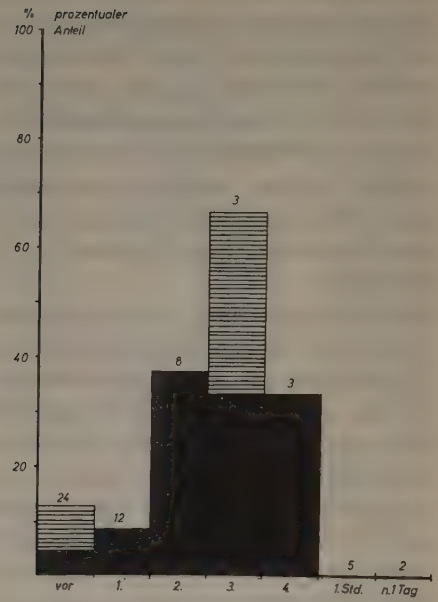


ABBILDUNG 3 b

Wir schlüsselten deshalb ebenfalls unser Material im Hinblick auf die Metastasenbildung auf. Wir stellten dabei fest, dass wir einige Tiere nicht dazu heranziehen konnten, weil sie entweder frühzeitig an einer interkurrenten Erkrankung gestorben oder aber nach dem Tode von ihren Stallgefährten so weitgehend angefressen worden waren, dass ein Befund nicht mehr zu erheben gewesen war. Es wurden nur die Tiere ausgewertet, die eindeutig an dem Tumor bzw. seinen Metastasen gestorben waren, und alle anderen ausgeschlossen. Sie werden in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

Von	10	verwertbaren	Tieren	der	Gruppe	RE	starben	6	(60 %)	mit Fernmetastasen
"	9	"	"	"	"	K	"	6	(67 %)	" "
"	9	"	"	"	"	Mass	"	6	(67 %)	" "
"	14	"	"	"	"	Op	"	13	(93 %)	" "

Wir beobachteten das interessante Phänomen, dass die am Tumor operierten Tiere eine weit grössere Zahl von Metastasen aufwiesen als die nicht operierten. Dieselbe Erscheinung hat Roussy (17) an einem grossen Material und mit mehreren Tumoren gefunden. Er nannte dafür drei Erklärungsmöglichkeiten.

1. Die vermehrte Tumorzellaussaat, die bei der Operation durch die Eröffnung zahlreicher Blut- und Lymphgefässe stattfindet.
2. Die bereits in die Peripherie ausgestreuten latenten Zellherde werden durch die

postoperativen Veränderungen der Reaktionslage manifest durch Proliferation.
3. Die Tiere bleiben durch die Operation länger am Leben und können deshalb die Metastasenbildung noch erleben.

Von diesen Punkten, die auch für die menschliche Pathologie von grossem Interesse sind, ist besonders der erste umstritten. So gibt es z.B. den Einwand (Büngeler (5)), eine Zellaussaat erfolge in den Tumorträger ja ständig; es komme vielmehr lediglich auf die Tumordisposition an, d.h. darauf, ob die mehr oder weniger stark ausgeprägten Abwehrkräfte des befallenen Organismus in der Lage sind, die fortwährend anflutenden Tumorzellen wirkungsvoll zu bekämpfen. Die einfache Vermehrung der ausgeschwemmten Zellen allein bewirke noch keine verstärkte Metastasenbildung.

Es sind aber Tierversuche bekannt, nach denen der Anzahl der im Blut kreisenden Tumorzellen doch eine grössere Bedeutung zukommt. So weiss man, dass es für die sichere Tumorübertragung einer bestimmten Mindestzellzahl bedarf, bei deren Unterschreitung mit einem Tumorangang nicht mehr mit Bestimmtheit gerechnet werden kann (7,19). Bereits erwähnt ist die Beobachtung Zeidmanns, der ein festes Verhältnis zwischen der Zahl der verimpften Zellen und der danach entstandenen Metastasen gefunden hat (23). Interessant ist ferner, dass bei demselben Tumor die notwendige Mindestdosis je nach Art der Applikation verschieden ist. Sie beträgt bei intravenöser Verimpfung 100.000 und bei subcutaner Zuführung 5.000 Zellen, während bei intraperitonealer Implantation einer einzigen Tumorzelle mit der Ausbildung des charakteristischen Tumorascites gerechnet werden kann. Es ist also eine Schwelle anzunehmen, die in den einzelnen Organen verschieden hoch liegt und für deren Überwindung dementsprechend verschieden grosse Zahlen von Tumorzellen notwendig sind. Dies geht auch aus einem Versuch (Schmähl 18) mit dem Walker-Ca hervor, das normalerweise nur in die Lungen metastasiert. Durch Injektion von besonders vielen Tumorzellen in die Vena portae konnten jedoch auch in der Leber Metastasen erzeugt werden. Das Yoshida-Sa dagegen vermochte selbst bei extrem hoher Dosierung nicht, Lebermetastasen zu bilden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass offenbar das Anwachsen von Geschwulstzellen ausser von der Art des Tumors sowohl von den Gegebenheiten im befallenen Organismus als auch von der Zahl der "angreifenden" Tumorzellen abhängig ist. Es ist also anzunehmen, dass es für jeden Tumor Organe gibt, in denen er, solange sie nicht geschädigt sind, die für sein Wachstum notwendigen Voraussetzungen nicht antrifft und infolgedessen nicht anwachsen kann, und andere, in denen er eine Tochtergeschwulst zu erzeugen vermag, wenn er auf Grund der Zahl der vorhandenen Zellen die spezifische Schwelle überschritten hat.

Diese Schwelle ist ein Ausdruck für die Aktivität der körpereigenen Abwehrkräfte gegen den Tumor, die im RES gesucht werden (Büngeler (4), Hackmann (10), Lidgas (13)), und kann durch allgemeine Noxen, auch durch eine grössere Operation, erniedrigt werden.

Die gleichzeitige operationsbedingte Vermehrung der kreisenden Tumorzellen

bedeutet einen verstärkten Angriff auf eine geschwächte Bastion: es kann zu einer gesteigerten Metastasierung kommen.
Wir haben in unseren Versuchen eine postoperative Verstärkung der Zellaussaat beobachtet. Auch kann man mit einer operationsbedingten Änderung der Reaktionslage rechnen. Dennoch können aber unsere Versuche nicht als Stütze für die oben ausgeführten Überlegungen benutzt werden. Errechnet man nämlich die durchschnittliche Lebensdauer der einzelnen in dieser Betrachtung berücksichtigten Tiere, so ergibt sich, dass die Tiere der Gruppen RE, K und Mass im Durchschnitt 25, 26 bzw. 23,5 Tage nach der Tumorübertragung überlebt haben, im Gegensatz zu den Tieren der Gruppe Op mit 30 Tagen.
Angesichts dieser so deutlich längeren Lebensdauer der operierten Tiere müssen wir zugeben, dass die hier angetroffene grössere Zahl der Metastasen sehr wohl auch dadurch zustande gekommen sein kann, dass diese Tiere eben längere Zeit Gelegenheit hatten, ihre Metastasen noch zu erleben.
Es treffen auf unsere Versuche also alle drei von Roussy (17) genannten Erklärungsmöglichkeiten zu; wir sind deshalb nicht befugt, die verstärkte Metastasenbildung allein auf die direkte Wirkung der Operation zurückzuführen, obschon man sie wohl einrechnen kann.

ABSCHLIESSENDER ÜBERBLICK ÜBER DIE ERGEBNISSE

Kurz zusammengefasst brachten die vorliegenden Untersuchungen folgende Ergebnisse.
1. Bei der spontanen Tumorzellaussaat konnte keine feste Gesetzmässigkeit etwa im Sinne einer zu bestimmter Zeit gehäuften Ausschwemmung oder ihres Ausbleibens beobachtet werden.
2. Bei der Irritierung des Tumors durch Massage, aber auch durch Operation, entstand eine vermehrte Ausschwemmung von Tumorzellen ins Blut, die aber nach kurzer Zeit wieder abklang.
3. Ein Vergleich der klinischen Verläufe zeigte eine durchschnittliche Überlebenszeit von 25 - 26 Tagen, die bei Massage verkürzt und durch die Operation ohne cytostatischen Schutz auf 28 Tage verlängert wurde.
4. Es erwies sich die gute cytostatische Wirkung von Trenimon bei der chemotherapeutischen Unterstützung einer Tumorexstirpation. Die Heilungsrate konnte von 20 % auf 60 % gesteigert und die Rezidive von 80 % auf 10 % vermindert werden.
5. Die von Tadenuma und Okonozi an Mäusen gefundene Malignitätssteigerung durch minimale Blutverluste konnte an unseren Tieren nicht beobachtet werden.
6. In der beschriebenen Versuchsserie ist erstmalig eine der bekannten Filtermethoden benutzt worden, deren man sich bisher lediglich zur cytologischen Aufbereitung von menschlichem Blut bedient hatte. Es ist deshalb nicht unwichtig, darauf hinzuweisen, dass sich diese Methode in der beschriebenen Form trotz

der grösseren Empfindlichkeit des Rattenblutes durchaus bewährt hat. Ihr grosser Vorteil ist, dass sie eine quantitative genaue Darstellung des gesamten entnommenen Materials erlaubt im Gegensatz zu den häufig benutzten Ausstrichmethoden, bei denen für ein vollständiges Aufbringen sämtlicher Zellen nicht garantiert werden kann. Im Sinne einer ausreichenden Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist die Verwendung einer quantitativen Methode zu fordern, und mit der beschriebenen Methode ist diese Forderung durchaus erfüllt.

Die oben zusammengestellten Ergebnisse sind an einem recht kleinen Tiermaterial gefunden worden. Auch ist die Zahl der Tumorzellen pro Filter sehr niedrig. Diese Zahlen, die den Charakter dieser Arbeit als orientierender Vorversuchsreihe offenbaren, können nicht den Anspruch erheben, endgültige und repräsentative Aussagen darzustellen. Sie vermögen nur, eine Tendenz aufzuzeigen, die in weiteren umfangreicheren Untersuchungen zu verfolgen und ggf. zu bestätigen oder zu korrigieren ist. Die notwendige Erhöhung der Zahlenwerte ist auf zwei grundsätzlich verschiedenen Wegen möglich: Entweder man erhöht die Zahl der Versuchstiere, oder aber man bemüht sich, die Zahl der in einer Blutprobe enthaltenen Tumorzellen zu steigern. Dafür gibt es wieder einerseits die Möglichkeit, eine Methode zu suchen, mit der grössere Mengen Blut entnommen werden können, oder einen Tumor mit einer stärkeren Zellaussaat. Dies muss nicht notwendig ein Tumor mit einer grossen Tendenz zur Metastasenbildung sein, da ja wie bereits ausgeführt, sehr gut eine grosse Anzahl von kreisenden Tumorzellen denkbar ist, ohne dass damit in jedem Falle eine ausgedehnte Metastasierung einhergehen muss.

LITERATUR

(1) ASHWORTH, T.R. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. Austral. Med. J. 14, 146 (1869) zit. nach ENGELL, H.C. Cancer cells in the circulating blood. Acta chir. Scand. (1950) supp. 201

(2) BESREDKA, A., GROSS, L. Das Problem der Krebsmetastasen. Wien. med. Wschr. 43, 1161 (1935)

(3) BLUMENTHAL, F. Über Erzeugung von Tumoren mit Blut von Tumortieren. Zschr. Krebsforsch. 29, 549 (1929)

(4) BÜNGELER, W. Tierexperimentelle und zellphysiologische Untersuchungen zur Frage der allgemeinen Geschwulstdisposition. Frankf. Zschr. Path. 39, 314 (1930)

(5) BÜNGELER, W. Die Metastasenbildung bei bösartigen Geschwülsten. Med. Welt 12, 1587 (1938) 1625 (1938)

(6) DOMAGK, G. Experimentelle Grundlagen chemotherapeutischer Rezidivprophylaxen. Vortrag Oesterr. Krebstagung Salzburg Mai 1959

(7) DE GAETANI, G.F., BLOTHNER, E. Ein Beitrag zur Frage der Geschwulsttransplantation mit ausgezähltem Zellmaterial. Zschr. Krebsforsch. 44, 108 (1936)

(8) GROSS, L. Die Übertragung des sogenannten Wiener Mäusesarkoms auf dem Blutwege. Zschr. Krebsforsch. 37, 562 (1932)

(9) GROSS, L. Über die Zeitgrenzen der Übertragungsfähigkeit eines Impfsarkoms mittels des Blutes und der tumorfreien Organe der Maus. Zschr. Krebsforsch. 38, 241 (1932)

(10) HACKMANN, CH. Über die Bedeutung exogener und endogener Allgemeinfaktoren für das Wachstum maligner Geschwülste. Dtsch. med. Wschr. 83, 134 (1953)

(11) JONASSON, O. The viability of circulating cancer cells in experimental cancer.
Surg. Forum 9, 577 (1958)

(12) JONESCU, P. Über das Vorkommen von Geschwulstzellen im strömenden Blut von Tieren mit Impftumoren.
Zschr. Krebsforsch. 33, 264 (1930/31)

(13) LIDGAS, E. Über das Problem der hämatogenen Metastasierung beim Karzinom.
Arch. Geschwulstforsch. 4, 339 (1952)

(14) MAD, H. Dissertation: Methoden zur Isolierung von Geschwulstzellen aus dem strömenden Blut.

(15) MARSH, M.C. Tumor massage and metastasis in mice.
J. Cacer Res. 11, 101 (1927)

(16) ROBERTS, S., WATNE, A., McGRATH, R., McGREW, E., COLE, W.H. Technique and results of isolation of cancer cells from the circulating blood.
Arch. Surg. (Chic.) 76, 334 (1958)

(17) ROUSSY, G., OBERLING, CH., GUÉRIN, M.
Le rôle de l'ablation des tumeurs greffées dans la production des métastases.
Bull. Assoc. franc., Etudes Canc. 25, 592 (1936)

(18) SCHMÄHL, D. Krebsmetastasen: Ihre Entstehung und Prophylaxe.
Medizinische, Stuttgart 40, 1847 (1959)

(19) SCHMÄHL, D. Experimentelle Untersuchungen an Ratten über die Metastasierung von Tumoren.
Zschr. Krebsforsch. 62, 456 (1958)

(20) SOOST, H.-J. Über das Vorkommen von Tumorzellen im zirkulierenden Blut.
Dtsch. med. Wschr. 85, 893 (1960)

(21) TADENUMA, K., OKONOZI, S.
Experimentelle Untersuchungen über Metastasen bei Mäuse-Carcinomen.
Zschr. Krebsforsch. 21, 168 (1923)

(22) WAGNER, A. Übertragung des Ehrlichschen Mäuseascites-Carcinoms durch metastasenfreie Organe des Tumorträgers.
Zschr. Krebsforsch. 48, 40 (1938/39)

(23) ZEIDMANN, I., McCUTCHEON, M., COMAN, D.R.
Factors affecting the numbers of tumor metastases. Experiments with a transplantable mouse tumor. Cancer Res. 10, 357 (1950)

Meinem Doktorvater, Herrn Dr. med. Hans-Jürgen Soost, sei hiermit herzlich gedankt für die Überlassung des Themas und für die grosszügige Förderung, die er in jeder Hinsicht meiner Arbeit hat zugute kommen lassen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. W. Bickenbach als dem Direktor der I. Universitäts-Frauenklinik München für den Arbeitsplatz, den er mir an seiner Klinik zur Verfügung gestellt hat.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 24. April 1935 in Tilsit als erstes von vier Kindern des Dr. med. Herbert Otte, Chirurg und Chefarzt des Tilsiter Kreiskrankenhauses, und seiner Ehefrau Dr. med. Ruth Otte, geb. Hockemeyer, geboren.
Im Jahre 1941 kam ich auf die Volksschule.
Meinen neunten Geburtstag erlebte ich noch in Tilsit. Im Sommer 1944 verliess meine Mutter mit uns vier Kindern Ostpreussen auf der Flucht vor der sich nähernden Ostfront. Von August 1944 bis Januar 1945 fanden wir Aufnahme bei einer befreundeten Familie in Wittenberge. Ich besuchte dort die 4. Volksschulklasse.

Im Frühjahr 1945, wenige Tage vor der Einnahme durch die westlichen Alliierten, übernahm meine Mutter in Bienenbüttel, einem Dorf in der Nähe von Lüneburg, eine Landpraxis, die sie bis August 1946, der Heimkehr meines Vaters, der im Kessel von Königsberg in russische Gefangenschaft geraten war, allein führte.
In Bienenbüttel besuchte ich die 5. Volksschulklasse. Ab Frühjahr 1946 bei zunächst sehr mangelhaften Verkehrsverhältnissen Besuch des Johanneums in Lüneburg.

Im Sommer 1950 zogen wir nach Dannenberg (Elbe) um, wo mein Vater eine Anstellung als leitender Arzt des dortigen Kreiskrankenhauses bekommen hatte. Deshalb Umschulung auf die benachbarte Kreisoberschule in Lüchow. Ostern 1956 Abitur in Lüchow.

Im Anschluss an das Abitur studierte ich fünf Semester lang in Tübingen bis zum Physicum im Oktober 1958. Das Wintersemester 58/59 verbrachte ich in München, studierte dann ein Semester an der Freien Universität in Berlin und kehrte wieder nach München zurück, wo ich am 15. Dezember 1961 das Staatsexamen mit "sehr gut" bestand.

Nach zwei Monaten Tätigkeit als Medizinalassistent an der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Dannenberg arbeite ich jetzt an der Universitäts-Hautklinik in München.

LEBENSLAUF